

蜜蜂下行神经元的光反应特征*

吴卫国 刘 念 吴梅英

(中国科学院生物物理研究所神经生物学研究室 北京 100101)

摘要 利用电生理细胞外记录方法研究了蜜蜂下行神经元对光的反应特征以及与水平方向上光刺激角度的关系。光刺激主要引起下行神经元的给光反应和撤光反应,持续性反应很弱。下行神经元的反应依赖于光刺激强度,在一定的强度范围内,随着光强度增大,反应强度也增大。根据改变刺激角度引起的反应,在水平方向上最敏感,张角最大,约大于 40° 。

关键词 蜜蜂,下行神经元,光反应特征

蜜蜂的下行神经元是中脑的输出部分,是脑和食道下神经节与胸神经节联系的通路。它们的功能是支配蜜蜂身体运动,导致蜜蜂的飞行,视动,着陆,翻滚等行为反应,这些行为反应都与蜜蜂的视觉有关。视觉信息从光刺激复眼的视网膜开始,经过薄板,髓和小叶等神经节的处理与加工,最后传递到脑的输出部分——下行神经元。Fletcher (1984) 等^[1]利用运动光栅刺激,胞内记录了蜜蜂 (*Apis mellifera*) 下行神经元方向运动检测特性。Goodman 等 (1987)^[2]利用同样方法研究了蜜蜂 (*A. mellifera*) 的 12 个下行神经元,根据反应特征和这些神经元的解剖学特点,将这些神经元分为 6 组,命名为 DNI-DNVI (descending interneurons)。Ibbotson (1990)^[3]研究发现蜜蜂 (*A. mellifera*) 第七组下行神经元,命名为 DN VII。Olberg (1981, 1986)^[4,5]曾对蜻蜓 (*Aeschna umbosa*, *Anax junius*) 下行神经元的光谱特性进行过研究,将蜻蜓下行神经元分为自运动检测器和目标运动检测器两种类型。我们利用可变光强度的静止的单色光和白光研究蜜蜂下行神经元的光反应特性和改变刺激角度记录引起的反应特征。类似研究国内外尚未见报道。

1 材料和方法

1.1 材料

所采用的实验动物为意大利蜂 (*Apis mellifera*)。在蜂房出口处挑选活跃的成年工蜂,经过用二氧化碳轻微麻醉两分钟后,剪掉触角和附肢,将其背部朝下用一定比例的混合蜡固定在一个多维可调的球关节活动支架上。用标本针将蜜蜂头部向后倾斜大约 30° 角并固定,使其暴露颈部,剪掉前侧片,基腹片和颈膜,暴露腹神经索和前胸神经节。

1.2 方法

1.2.1 刺激: 实验所用的刺激为静止的白光和点单色光,其中单色光为 14 种波长,分别为 340, 360, 380, 400, 420, 440, 460, 485, 498, 524, 538, 562, 582 和 605nm。从 150W 高

* 国家自然科学基金,国防科工委基金和中国科学院视觉信息加工开放实验室资助。
本文于 1993 年 11 月收到。

氙灯发出的光经隔热玻璃滤掉红外以后,经石英透镜成为平行光束,通过一组中性滤波片和干涉滤波片后,再经过一个石英透镜使光束汇聚,通过一电子快门光束聚焦在内径为3mm的光导上(图1)。检测下行神经元对各种波长的单色光强度敏感性时,光导末端在蜜蜂正前方,距离蜜蜂复眼4cm,光导的光点对蜜蜂复眼的张角为 4.3° 。检测下行神经元对白光的反应时,光导末端距离蜜蜂复眼7.8cm,光点对蜜蜂复眼的张角为 2.2° 。刺激光的强度通过中性滤波片调节,波长通过干涉滤波片选择。光路中的电子快门用计算机控制,每次刺激时间为1s。相对刺激光强采用热敏光电耦合照度计和检流计测量。

1.2.2 记录: 采用钨丝电极进行胞外记录。把0.15mm直径的钨丝放入饱和的KOH溶液中,接通3伏交流电,进行腐蚀。腐蚀后的电极尖端直径为 $1\mu\text{m}$ 左右,经冲洗,烤干后,用醇酸绝缘漆镀漆,烤干备用。电极与组织接触时,测得电极的尖端阻抗为 $1\text{M}\Omega$ 左右。记录电极插入颈部下行神经索,参考电极为铂金丝,插在蜜蜂后胸。记录电极用微电极推进器操纵。大部分细胞记录时间可持续4h。胞外记录的电信号用放大器进行放大,调节整形阈值,将幅度超过一定阈值的电信号整形为方波脉冲,方波脉冲个数用计算机进行计算并储存在软盘中。放大后的信号和整形方波可以同时示波器上进行观察,并用音响监听。调节整形阈值可以达到记录单细胞电位发放的目的。所有记录为连续五次单刺激反应叠加的结果。记录的Bin宽为10ms,记录时间为 128Bin_t 或 256Bin_t ,自发活动每次测试之前测量(实验装置见图1)。

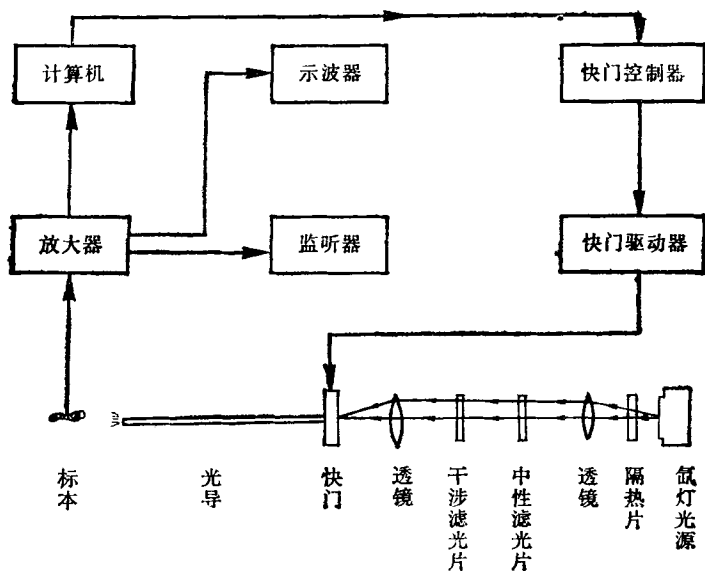


图1 实验装置简图

1.2.3 关于光强度单位, 国内外不少学者在研究昆虫视觉通路中神经元对光的反应及光谱特性时常常使用相对光强度^[6-8]。本文的测量数据是光电耦合管产生的电流强度,由于电流强度与功率成正比,所以电流的相对值唯一决定功率的相对值,并等于光功率的相对值。在图2中,562nm和380nm的刺激光强度相等,意思是两者的光功率相等,之所以取光功率相等,是因为它引起的神经元反应强度相近。刺激光为中等强度,在原始测量数

据中,其等价于光功率的相对电流值大约为 0.6。图 4,图 5 的光强度是单位时间通过给定面积的相对光子数。由公式:

$$N_x = (i_x \lambda_x / i_o \lambda_o) N_o = k i_x \lambda_x$$

$$k = N_o / i_o \lambda_o$$

其中 N_x 和 N_o 分别为被测光和参考光单位时间通过给定面积(探头的窗口面积)的绝对光子数。 λ_o 为已知, i_o 可测量,本实验中 i 为检流计读数。

在计算单位时间通过给定面积的相对光子数时,没有必要求出 k 的绝对值。由于其不影响数据和结果处理,为了作图方便,在所有 $i_x \lambda_x$ 值中,选取 $(i_x \lambda_x)$ 为最小值,即,令 $K = 1/(i_x \lambda_x)$,使得 $(N_{\text{相对min}}) = 1$ 。图中横坐标为对数坐标,单位为单位时间内通过给定面积的相对光子数。

2 结果

2.1 下行神经元对光反应的特征

记录了 52 个对光刺激产生反应的下行神经元,其中部分神经元用 128 个 *Bin* 进行采样,*Bin* 宽度为 10ms,光刺激和采样同时进行。部分神经元用 256 个 *Bin* 进行采样,在记录进行到第 81 个 *Bin* 时开始施加刺激,*Bin* 宽和光刺激时间不变。

受刺激的细胞对一定强度的白光和单色光刺激都能产生反应。反应的潜伏期为 40—60ms。这些反应由三部分组成:给光反应(on-response),撤光反应(off-response)和持续性反应(sustained-response)。光刺激引起强烈给光反应和撤光反应,而持续反应却比较弱。个别细胞在较强光刺激下产生较强的持续反应。给光反应和撤光反应都是兴奋型的。最强烈的给光反应发生在给光后 80—100ms,然后有的细胞反应频率慢慢下降,有的细胞则骤然下降,细胞峰电位(spike potential)幅度值一般为 100—1 000 μ v。撤光反应比给光反应要弱,时程也较短。而有的细胞在较强光刺激下,撤光反应比给光反应强烈,时程较长,可达 200ms。在弱光刺激下时程较短。在等强度的各种单色光刺激下,大部分细胞产生的给光反应和撤光反应都比较强烈(见图 2)。

有的细胞在波长较长的可见光刺激下,给光反应和撤光反应都比较强烈,而在紫外光刺激下,给光反应较强,撤光反应却很弱。有的细胞在绿光作用下产生比较强烈的给光反应和撤光反应,持续性反应也较强,在同等强度的紫外光刺激下,产生的给光反应十分强烈,而撤光反而和持续性反应则很弱。细胞在白光刺激下反应较强烈,给光反应,撤光反应和持续性反应都比较明显。在高强度白光刺激下,细胞的给光反应持续时间较长,在整个光刺激期间发放频率慢慢下降,撤光后的反应持续时间也较长。在低强度白光刺激下,细胞产生的反应较弱,但持续整个刺激期间(见图 3)。

2.2 下行神经元光反应与刺激光强度的关系

所记录的下行神经元的反应都与刺激光的强度有关。随着光强度的增大,反应变得激烈。在白光作用下,细胞反应的三部分都随光强度的增大而增大。图 3 显示了下行神经元在六种不同光强度白光刺激下的反应。将细胞的反应频率对刺激光的强度作图,得到细胞对该单色光的强度曲线。由于细胞的反应成分有很大差异,为了更好地说明反应的性质,给光反应,撤光反应和持续性反应分别对刺激光强作图,得到相应的强度曲线。

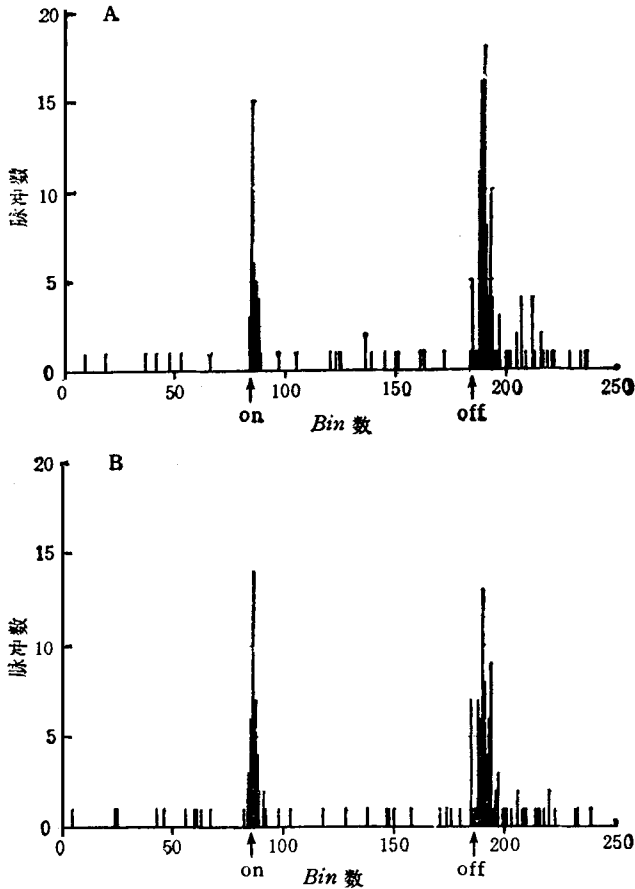


图2 在较强光刺激下,下行神经元产生的给光反应和撤光反应

发放频率为4Hz,脉冲数目为5次单刺激反应的叠加结果。1Bin宽为10ms,on给光反应开始,off撤光反应开始。A:刺激光波长为562nm,B:刺激光波长为380nm。

强度曲线很好地说明了细胞光反应和光强的关系。在一定的强度范围内,给光反应和撤光反应的强度曲线呈直线上升,曲线在一个很窄的,约在相对光强10—100范围内,上升特别快。有的细胞在光强达到一定值时,其给光反应和撤光反应达到饱和(图4.A)。而有的细胞在所有单色光最强的强度范围内观察不到饱和现象(图4.B)。

这说明不同细胞检测的光强度范围不一样。持续性反应的强度曲线有大的波折,没有一定的规律。对于某些细胞持续性反应受到给光反应的影响,在强光刺激下,细胞产生很强的给光反应,而随后产生的持续性反应受到抑制。随着光强的降低,给光反应减弱,持续性反应加强。当刺激光较弱时,产生的持续性反应也较弱。在一定的强度范围内强度曲线出现一个朝上的较宽的峰(见图5)。

2.3 下行神经元光反应与光刺激角度的关系

在与蜜蜂体轴共面的水平方向上从不同角度对蜜蜂复眼进行等距离的刺激。光导末端与蜜蜂复眼的距离为7.8cm,刺激光为白光和波长分别为360nm的紫外光,440nm的蓝光和538nm的绿光。为了便于分析,作通过蜜蜂头部并与其体轴垂直的直线,定蜜蜂

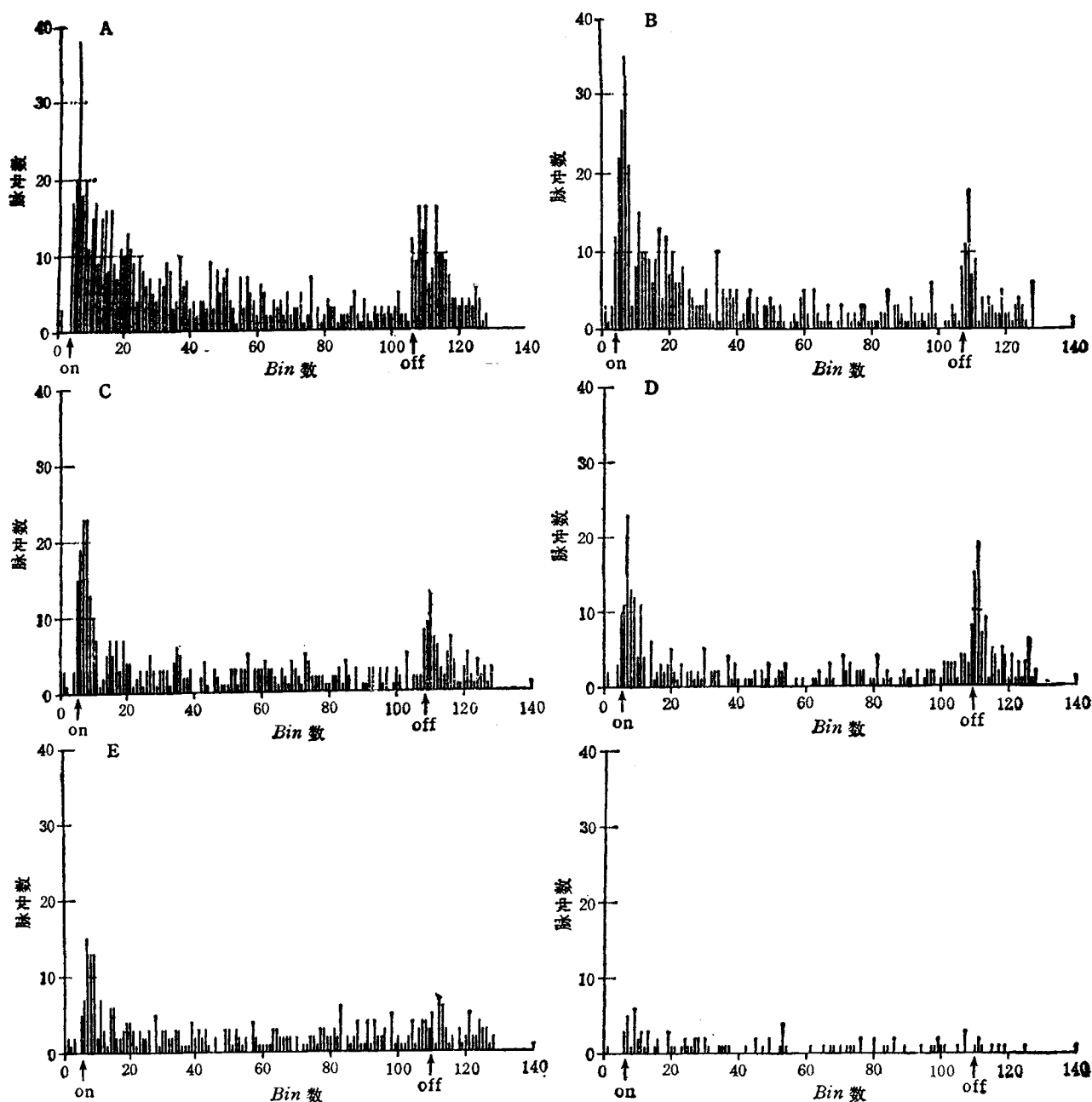


图3 下行神经元在不同强度白光刺激下的反应

光强度为相对值。A: 2500, B: 540, C: 87, D: 12, E: 3, F: 0.7。1Bin = 10ms,

on 给光反应开始, off 撤光反应开始。

左侧方向为 0° 角, 右侧方向为 180° 角, 正前方为 90° 角。从不同方向进行光刺激引起蜜蜂下行神经元产生的反应对刺激角度作图, 得到反应角度曲线, 反应角度曲线很好地表达了记录的细胞在水平方向上的敏感性。在这组实验中记录了15个细胞。这些细胞的视场是

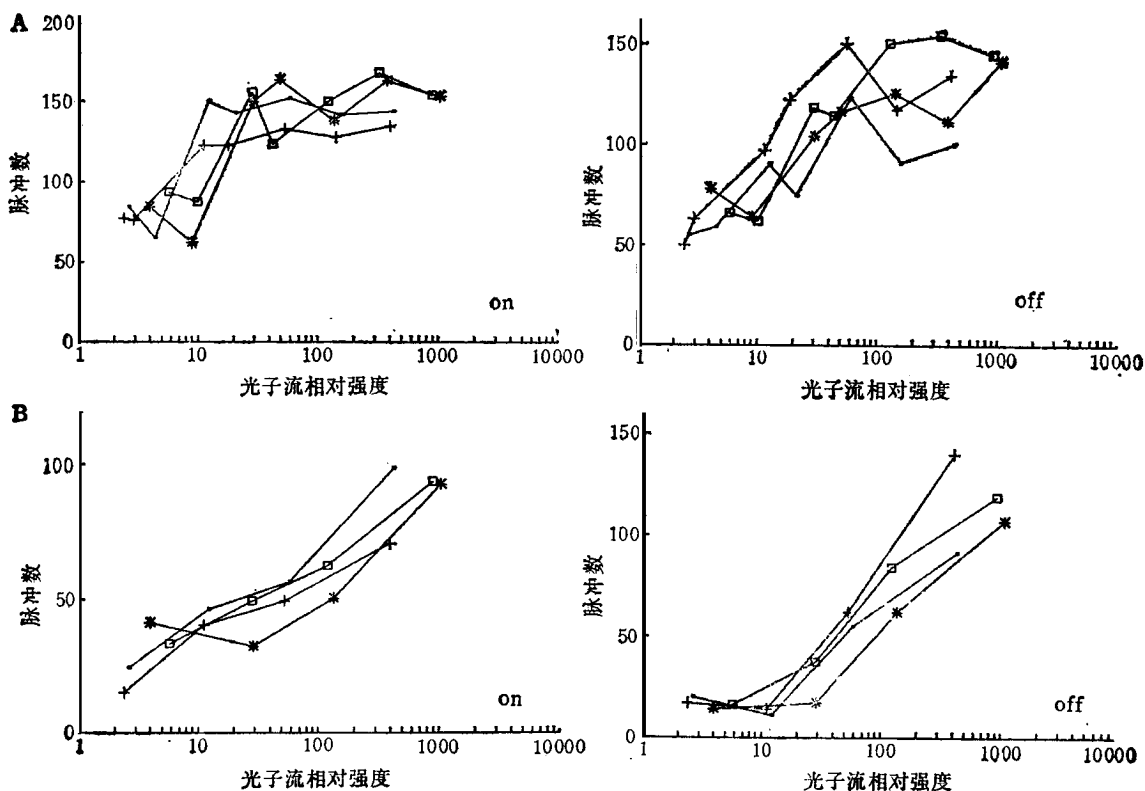


图4 下行神经元反应强度曲线

on 给光反应, off 撤光反应。刺激光波长为:

-*— 440nm; -+- 485nm; --- 498nm; —□— 524nm。

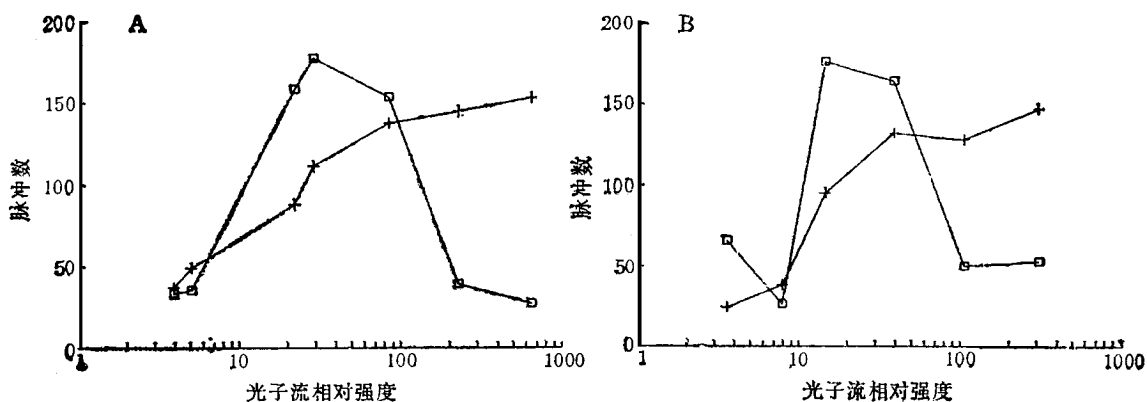


图5 下行神经元的给光反应和持续性反应强度曲线

A: $\lambda = 562\text{nm}$, B: $\lambda = 360\text{nm}$ 。—+- 给光反应, —□— 持续性反应。

很宽的,在水平方向上一般都大于 90° 。一定强度的光从不同角度投射到蜜蜂复眼都能引起细胞的反应。细胞反应的成分主要是给光反应和撤光反应。随着刺激角度的改变,

这两种反应成分的相对强度变化不大。

这组实验还记录了单色光刺激时的反应角度曲线。大部分细胞对各种不同单色光的最敏感区互相重叠,但是反应角度曲线的峰值不在同一点。与白光刺激一样,大部分记录细胞对单色光的反应角度曲线峰值位于下行神经纤维的同侧。图6显示记录位置在蜜蜂颈部的右侧神经索。波长为 360nm 紫外光刺激引起的较强反应发生在 100° 左右,波长在 440nm 蓝光刺激在大于 100° 投射角下都能引起较强烈反应,538nm 绿光引起的最大反应在 110° 附近。

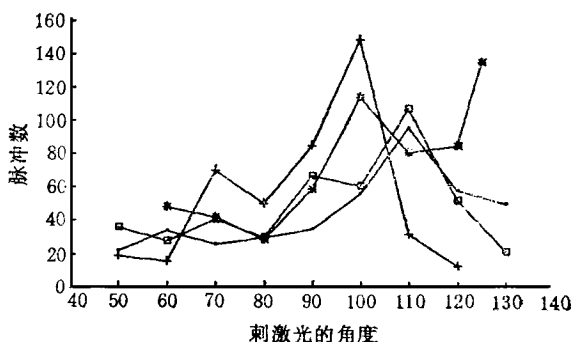


图6 下行神经元的反应角度曲线

细胞对于不同单色光和白光具有不同的绝对敏感性,敏感峰值接近,都位于记录电极的同侧。— · — · — 白光,---*--- $\lambda = 360\text{nm}$,---+--- $\lambda = 440\text{nm}$,---□--- $\lambda = 538\text{nm}$ 。

3 讨论

3.1 实验结果显示大部分下行神经元的自发放电频率较低,60% 的神经元自发放活动频率低于 10Hz。在视叶中,17% 的神经元不显示自发活动^[7],髓和小叶神经元的自发放活动频率比较高。Richle (1980) 发现外侧前脑中 2% 的神经元无静息发放,在中央前脑中,未发现不具有自发活动的神经元^[9]。神经元的自发放活动提高了通过调制自发活动对刺激起反应的可能性。这些神经元可以引起兴奋性或抑制性反应,这依赖于刺激的性质^[8],这一机制在侧前脑中比在髓和小叶中更普遍。本实验未发现具有抑制性反应的下行神经元,可能视觉信息在进入输出神经元——下行神经元之前已完成了基本的加工过程。

3.2 下行神经元产生的给光反应,撤光反应和持续性反应的强度及持续时间不仅与刺激光的波长有关,而且与刺激光的强度有关。大部分神经元的给光反应和撤光反应随着刺激光强的增大变得激烈。在光强很大时,反应趋于饱和。有的神经元在实验所用的刺激光强度范围内观察不到反应饱和现象,但是其最大反应频率低于其它神经元的饱和反应频率。也有某些神经元在较强刺激光作用下,其反应频率反而下降。这些结果表明,检测刺激光强度的方式不是单一的。不同神经元最敏感的光强范围不同。这可能是蜜蜂与昆虫伪瞳孔调节,细胞疲劳反应不同的适应各种光照度的另一种机制。另外,下行神经元的给光反应,撤光反应和持续性反应的强度与持续时间是否与下行神经元的类型 (DNI-DNVII) 有关系,有待今后结合细胞内标记研究进一步证实。

3.3 在本实验中,由于实验条件的限制,没有测量下行神经元的感受野,但测量了对其体轴平面上水平方向的光敏感性,它相当于二维感受野在水平方向上的一维横切。横切线不一定通过感受野的中心位置,因此实际上感受野的张角要比在水平方向上测得的敏感张角大。实验结果发现,下行神经元在水平方向上的光敏感张角较大,一般大于 40° ,但是在大于 90° 的张角范围内,光刺激都能诱发下行神经元的反应,比髓和小叶神经元的感受野大得多。大部分记录的细胞对不同单色光的反应角度曲线的峰值不完全相同,这可

能由于不同下行神经元对不同波长的光检测光强度范围不同,也可能由于不同下行神经元或同一下行神经元对不同波长的光有不同的敏感性。这表明下行神经元对视网膜感受器的汇聚程度比视叶的神经元大,它能够对更广阔的视域敏感^[10],这有利于蜜蜂在飞行过程中检测自身的运动状态,调整运动的速度和方向,同时也有利于蜜蜂寻找目标。

参 考 文 献

- 1 Fletcher W A. Horizontal and vertical motion detectors in the ventral nerve cord of honeybee, *Apis mellifera*. J. Physiol., 1984, **351**: 15.
- 2 Goodman L J, William A F, Richard G G, *et al.* Motion sensitive descending interneurons, ocellar LD neurons and neck motoneurons in the bee: A neural substrate for visual course in *Apis mellifera*. In: Menzel R, Mercer A eds. Neurobiology and behaviour of honeybees. Berlin Heidelberg New York: Springer, 1987, 158—171.
- 3 Ibbotson M R. A system of insect neurons sensitive to horizontal and vertical image motion connect the medulla and midbrain. J. Exp. Biol., 1990, **148**: 255—279.
- 4 Olberg R M. Object- and self-movement detectors in the vertical nerve cord of the dragonfly. J. Comp. Physiol. A., 1981, **141** (3): 327—334.
- 5 Olberg R M. Identified target-selective visual interneurons descending from the dragonfly brain, J. Comp. Physiol. A., 1986, **159** (6): 827—840.
- 6 Horridge G A, Wang X, Zhang S W, *et al.* Color inputs to motion and object vision in an insect. Phil. Trans. R. Soc. Land. B., 1990, **329** (1254): 257—263.
- 7 Hertel H. Chromatic properties of identified interneurons on the optic lobes of the bee. J. Comp. Physiol. A., 1980, **137** (3): 215—231.
- 8 Hertel H, Maronde U. Processing of visual information in the honeybee brain. In: Menzel R, Mercer A. eds. Neurobiology and behaviour of honeybees. Berlin Heidelberg New York: Springer, 1987, 141—157.
- 9 Erber L, Menzel R. Visual interneurons in the median photocerebrum of the bee. J. Comp. Physiol. A., 1977, **121** (1): 65—77.
- 10 Ibbotson M R, Goodman L J. Response characteristics of four wide-field motion-sensitive descending interneurons in *Apis mellifera*. J. Exp. Biol., 1990, **148**: 255—279.

RESPONSE CHARACTERISTICS OF DESCENDING INTERNEURONS TO LIGHT IN HONEYBEES

Wu Weiguo Liu Nian Wu Meiyang

(Department of Neurobiology, Institute of Biophysics, Academia Sinica Beijing 100101)

Abstract Response characteristics of the descending interneurons in the honeybee (*Apis mellifera*) to stimulating light and their relation to the different horizontal direction of the stimulating light were studied with electrophysiological exocellular recording method. The light stimulus elicits strong on- and off-reponses and weak sustained response. The responses of descending interneurons depend on the intensity of the light; when the luminance gets higher, response becomes stronger. Based on the response characteristics of descending interneurons elicited by light stimuli with different projecting angles, the most sensitive range is approximately in an angle of 40 degrees.

Key words honeybee, descending interneurons, light response characteristics